栎旋木柄天牛高毒力球孢白僵菌菌株的筛选

刘玉军[1]，张龙娃[1]，何亚琼[1]，王　滨[1,*]，丁德贵[2]，李增智[1]

（1. 安徽农业大学微生物防治省重点实验室，合肥　230036；2. 安徽省林业有害生物防治检疫局，合肥　230001）

摘要：栎旋木柄天牛 *Aphrodisium sauteri* 是近年来在安徽黄山风景区大面积暴发的危险性林业有害生物之一，其发生危害已经严重影响了风景区自然与生态景观。本研究选择分离自不同天牛成虫的 8 个球孢白僵菌 *Beauveria bassiana* 菌株，依据菌落形态、菌株生长速度、产孢量、萌发率、抗旱力和产胞外蛋白酶水平等生物学性状进行初步筛选。在此基础上，筛选出生物学性状优良菌株 Bb202、Bb646 和 Bb1898，并进一步对栎旋木柄天牛幼虫进行生物测定。基于此种筛选模式的菌株筛选方法筛选出了具有菌落生长速度快、萌发率高、产孢和抗旱能力强、胞外蛋白酶产酶水平高及毒力强的球孢白僵菌 Bb202 菌株。该菌株对栎旋木柄天牛的校正死亡率达 92.8%，侵染率达 93.3%，在浓度为 1×10^7/mL 时的半致死中时仅为 5.86 天，显示出对目标天牛的极强毒力，在栎旋木柄天牛的生物防治中将有重要的应用价值。

关键词：栎旋木柄天牛；球孢白僵菌；生物学特性；生物测定；菌株筛选

中图分类号：Q965　　**文献标识码**：A　　**文章编号**：0454-6296(2008)02-0143-07

Screening of high virulent strains of *Beauveria bassiana* against a dangerous forest cerambycid beetle, *Aphrodisium sauteri* (Coleoptera: Cerambycidae)

LIU Yu-Jun[1], ZHANG Long-Wa[1], HE Ya-Qiong[1], WANG Bin[1,*], DING De-Gui[2], LI Zeng-Zhi[1] (1. Anhui Provincial Key Laboratory for Microbial Control, Anhui Agricultural University, Hefei 230036, China; 2. Forest Pests Control and Quarantine Bureau of Anhui Province, Hefei 230001, China)

Abstract: *Aphrodisium sauteri* is one of the most dangerous forest pests in China and has caused extensive mortality of oak trees in Huangshan mountains. In this study we surveyed the possibility of using the entomopathogenic fungus, *Beauveria bassiana* as a biological control agent against the notorious longhorn beetle. Here eight strains of *B. bassiana*, isolated from different longhorn beetles, were employed as the candidate strains against the pest insect. As the preliminary screening, the biological characteristics of these eight strains, including colony morphology, growth rate, sporulation, germination rate, drought tolerance, and extracellular protease production, were examined. Based on the comparison of the biological characteristics, three strains Bb202, Bb646 and Bb1898 among the tested strains were adopted for further bioassay against *A. sauteri* larvae. The bioassay results showed that Bb202 showed the highest virulence on the target beetle with a mortality of 93.3%, and the median lethal time (LT_{50}) was 5.86 d at a concentration of 1×10^7 conidia/mL. Thus Bb202 exhibits the great potential as one of the biological control agents for the sustainable control of *A. sauteri* in the future.

Key words: *Aphrodisium sauteri*; *Beauveria bassiana*; biological characteristics; bioassay; strain screening

栎旋木柄天牛 *Aphrodisium sauteri* 是国家林业局 2003 年首次发布的重要的危险性林业有害生物。该天牛近年来在安徽黄山风景区发生十分严重，主要危害细叶青冈栎 *Quercus myrsinaefolia*、青冈栎 *Cyciobala nopsis* 等栎属植物，每年造成大面积树木枯死，给景区的森林植被造成很大破坏，严重影响了景

基金项目：国家自然科学基金重点项目(30330500)；安徽高校省级自然科学研究重点项目(TD200708)；安徽省自然科学基金项目(070411012)；黄山风景区管委会栎旋木柄天牛防治课题(横向课题)

作者简介：刘玉军，男，1981 年生，安徽芜湖人，硕士研究生，研究方向为昆虫真菌学和化学生态学

* 通讯作者 Author for correspondence, E-mail: bwang@ahau.edu.cn

收稿日期 Received：2007-08-15；接受日期 Accepted：2008-01-02

区的自然与生态景观。栎旋木柄天牛以幼虫蛀食树干边材，初龄幼虫由枝的顶端向下蛀食，其蛀道长达200 cm 左右，老龄幼虫在化蛹前环绕枝干蛀食，使寄主环蛀处以上部分脱水枯死；寄主植物一旦遭受危害，轻者会引起风折，严重的将造成整株死亡。由于栎旋木柄天牛生活史的隐蔽性，在危害初期不易被发现，加大了监测和防治难度，一旦出现明显的被害状，树木已失去利用价值及有利的防治时机。文献记载该天牛仅在台湾省阿里山有分布，后来，在山东、广西、河南和江西一部分山区也发现有此类天牛（刘世儒和郭树嘉，1989；俞云祥，2002）。黄山风景区是全国著名风景名胜区，也是世界自然与文化遗产，为避免环境污染、保护生物多样性，不宜采取过多的化学防治。因此，选择适宜的替代防治手段显得十分必要。

昆虫病原真菌能持续控制害虫的特点及在多种农林害虫防治上的成功应用（Ho *et al*.，2002；Sergio *et al*.，2005；Fernando，2006），为此种危险性天牛的生物防治提供了新的途径。研究证明，利用合适的真菌杀虫剂剂型能有效地降低松墨天牛 *Monochamus alternatus*、光肩星天牛 *Anoplophora glabripennis* 等多种天牛的种群密度，并将之长期控制在较低的水平（Shimazu and Sato，2003；Shimazu，2004；Thomas *et al*.，2004）。在所有的昆虫病原真菌中，球孢白僵菌 *Beauveria bassiana* 应用最为广泛。据记载，该菌能侵染 15 个目 149 个科的 700 多种昆虫（蒲蛰龙和李增智，1996）。广泛的寄主谱是由于不同的球孢白僵菌菌株能侵染不同的寄主昆虫，具有不同的寄主专化性。同时，有研究指出不同的菌株间生物学特性也存在一定差异（孙继美等，1996；王成树等，1999；张立钦等，2000）。因此，利用球孢白僵菌防治栎旋木柄天牛首先就要筛选出对此天牛具有高致病力的菌株，但目前尚未见有关菌株筛选报道。为探讨使用白僵菌防治栎旋木柄天牛的有效途径，本实验研究了球孢白僵菌生物学性状和毒力等指标，筛选出对栎旋木柄天牛具有强致病力的菌株，为以后的野外大规模防治奠定了基础。

1 材料与方法

1.1 供试昆虫与菌株

栎旋木柄天牛幼虫采自安徽黄山风景区，在室内饲养 2 天后，选择健康、整齐的 5 龄幼虫用于试验。考虑到昆虫病原真菌对寄主昆虫的专化性，实验中所采用的 8 株球孢白僵菌菌株的寄主均为天牛（表 1）。

表 1 供试球孢白僵菌菌株的寄主及原始采集地

Table 1 The hosts and original localities of the tested strains of *Beauveria bassiana*

菌株 Strains	寄主 Hosts	原始采集地 Original localities
Bb01	木麻黄星天牛 *Anoplophora chinensis*	广东 Guangdong
Bb36	光肩星天牛 *Anoplophora glabripennis*	北京 Beijing
Bb202	松褐天牛 *Monochamus alternatus*	日本 Japan
Bb203	光肩星天牛 *A. glabripennis*	日本 Japan
Bb398	松褐天牛 *M. alternatus*	安徽黄山 Huangshan，Anhui
Bb646	松褐天牛 *M. alternatus*	安徽黄山 Huangshan，Anhui
Bb1448	松褐天牛 *M. alternatus*	安徽黄山 Huangshan，Anhui
Bb1898	栗山天牛 *Massicus raddei*	安徽黄山 Huangshan，Anhui

1.2 培养基

PPDA 培养基（成分：马铃薯 200 g，葡萄糖 30 g，琼脂 20 g，酵母 10 g，水 1 000 mL）。SDAY 培养基（成分：葡萄糖 40 g，琼脂 20 g，酵母 10 g，蛋白胨 10 g，水 1 000 mL）。

1.3 不同菌株生物学特性的研究

1.3.1 菌落生长性状观察：将灭菌的 PPDA 培养基冷却至 45℃ ~ 50℃，取 15 mL 置于直径 9 cm 的培养皿中。在无菌条件下，将供试菌株点接于 PPDA 培养基的平皿中，每菌株 3 个重复，恒温 25℃ ± 1℃培养，每天观察菌落的生长、色泽、形态和产孢等情况，在培养第 7 天、10 天和 14 天时采用十字交叉法测量菌落生长直径。

1.3.2 产孢量测定：在培养基上培养 14 天的菌落，用直径为 13 mm 的打孔器从每一菌落的中心点至边缘距离的 1/2 处打孔截取小菌块，每菌株 3 个重复。然后放入 50 mL 三角瓶中，加 0.05%吐温-80 水溶液 20 mL，经磁力搅拌器搅拌 10 min，获孢子悬浮液。用微量移取器从三角瓶不同层面吸取 200 μL 孢子悬浮液，滴在血球计数板上，在显微镜下观察计数。

1.3.3 孢子萌发率及抗旱力测定：用 0.05%吐温-80 溶液把菌株的孢子从菌落表面洗脱，在显微镜下观察，配成 1.0×10^6/mL 的孢子悬浮液，用微量移取器吸取 15 μL 滴在 2%琼脂的载玻片上。每菌株 6 个重复，置于 25℃ ± 1℃下培养。24 h 后在显微镜下取 10 个不同视野镜检萌发率。

抗旱力测定是将上述孢子悬浮液涂于载玻片上，迅速晾干，置于不同浓度盐酸溶液控制的相对湿度分别为 50%、75%和 100%的密闭环境中，24 h 后镜检萌发率。

1.3.4　胞外蛋白酶含量测定：参照 Bidochka 和 Khachatourians(1987)的方法。平板由 1.0% 的明胶和 1.5%的琼脂(均为 W/V)配成。各菌株配成 1×10^8/mL 的孢子悬浮液。用微量移取器取 10 μL 点滴在平板上，每个菌株重复 6 次，25℃ ± 1℃ 下培养 4 天后，用 15% (W/V) 的 $HgCl_2$ 溶液处理平板。菌落周围显现出清晰的透明环后，倒去 $HgCl_2$ 液。用游标卡尺测量纵横两个方向的透明环直径及菌落直径，以透明环与菌落直径之比的平均值作为胞外蛋白酶产酶量的指示值。

1.4　生物测定

1.4.1　菌液的准备：将生物学性状测定结果良好的 3 株菌株(Bb202，Bb646 和 Bb1898)用于进一步的生物测定。将 3 株供试菌株的孢子悬浮液涂布在铺有玻璃纸的 SDAY 平板上，25℃ ± 1℃ 恒温培养 10 天，待其充分产孢后将玻璃纸上的孢子粉刮下，称取约 20 mg 孢子粉并充分分散在 0.05% 的吐温-80 溶液中，待孢子全部被打散均匀后，用双层纱布过滤，或低速离心 20 min，弃去杂质和培养基残物，得到纯孢子悬浮液，血球记数板测定含孢量，配制成终浓度为 1×10^7/mL 的孢子悬浮液。

1.4.2　测定方法：每一菌株为 1 处理，以 0.05% 的吐温-80 溶液作对照，每个处理设 3 重复，每重复 5 头天牛幼虫。采用浸渍法接种，将试虫在 1×10^7/mL 孢子悬浮液中浸 1 s 进行接种，对照浸沾 0.05% 吐温-80 溶液。接种后的天牛单头放入盛有新鲜青冈栎木屑的养虫杯(上口直径 11.5 cm，下口直径 10 cm，高 8 cm)内，每个菌株重复 15 次，置于 25℃ ± 1℃ 培养箱内饲养，用浸有无菌水的湿棉球在杯内保湿 24 h，次日将棉球移出，并在盖上打 5 个直径为 2 mm 的小孔。隔日更换木屑，第 3 天开始，每天定时观察、记录各处理的死亡情况，并将死虫移出放在盛有已灭菌湿滤纸的培养皿内的载玻片上，25℃ ± 1℃ 保湿培养，死亡昆虫均镜检记数，持续观察 15 天。并统计幼虫死亡率、侵染率和半致死时间 LT_{50}。

2　结果和分析

2.1　生物学特性研究

2.1.1　培养形态：供试 8 个菌株在 PPDA 培养基上，外观形态差异较大，大致可分为 3 种类型：菌落疏松型(A 型)、菌落紧密型(B 型)和菌落粉状(C 型)。菌丝生长快、产孢早且孢子层厚的菌株都集中在 C 型中，菌丝生长缓慢、产孢少的菌株多集中在 A 型，而 B 型在生长速度与产孢方面介于两者之间(表 2)。

表 2　不同菌株在 PPDA 培养基上的形态特征

Table 2　Colony morphological characteristics of the tested strains on PPDA medium

菌株 Strains	类型 Type	菌落色泽 Colony color	菌落形态 Colony morphology	基质色泽 Matrix color
Bb01	A	白色 White	绒毛状 Villous-like	黄褐色 Tawny
Bb36	A	白色 White	绒毛状 Villous-like	黄褐色 Tawny
Bb202	C	乳白略黄 Creamy white with slight yellow	薄粉状 Thin powder-like	黄色 Yellow
Bb203	A	白色 White	绒毛状 Villous-like	黄褐色 Tawny
Bb398	B	乳白 Creamy white	毡状 Felt-like	褐色 Brown
Bb646	C	乳白略黄 Creamy white with slight yellow	薄粉状 Thin powder-like	黄色 Yellow
Bb1448	B	乳白 Creamy white	毡状 Felt-like	褐色 Brown
Bb1898	C	乳白略黄 Creamy white with slight yellow	薄粉状 Thin powder-like	黄色 Yellow

2.1.2　不同菌株的平均生长速度、产孢量和萌发率比较：菌株营养生长快慢是反映菌株优良性状指标之一。由表 3 可知，8 个白僵菌菌株之间营养生长有明显差异。以 Bb202、Bb646 和 Bb1898 生长最快，14 天时菌落直径均超过 5 cm，显著高于其他 5 个菌株的菌落直径。方差分析表明该三个菌株之间无显著性差异，但与其他 5 个菌株有显著性差异，从生产性状考虑，这 3 个菌株优于其他菌株。

同时，菌株 Bb202、Bb646 和 Bb1898 的产孢量明显优于其他各菌株，其中产孢量最高的菌株 Bb202 比最低的 Bb36 要高 4 倍之多。产孢量越高，意味着在真菌杀虫剂的工业化生产时，其生产效率越高；同时，在完成对寄主昆虫的侵染后，其会产生更多的孢子以利于再次的侵染与扩散。

此外，各菌株间 24 h 孢子萌发率也存在着显著性差异。Bb202、Bb646 和 Bb1898 孢子平均萌发率高，24 h 的孢子平均萌发率分别为 98.92%、97.67% 和 97.83%(表 3)。而特定时间内的萌发率越高，表明孢子萌发速度越快，其具有的毒力可能越强。

表 3 球孢白僵菌菌株的生长、产孢及发芽情况

Table 3 Growth, sporulation, and conidia germination of the tested strains on media

菌株 Strains	菌落直径 Colony diameter (mm)			产孢量 ($\times 10^8$/mL) Sporulation	萌发率 (%) Germination
	7 d	10 d	14 d		
Bb01	11.10 ± 0.59 dC	25.28 ± 0.42 dC	36.66 ± 0.33 cC	0.33 ± 0.03 eD	86.50 ± 3.39 cC
Bb36	10.21 ± 0.37 eD	23.31 ± 0.74 eD	33.32 ± 0.53 dD	0.32 ± 0.03 eD	81.17 ± 2.93 dD
Bb202	19.03 ± 0.24 aA	33.86 ± 0.45 aA	52.08 ± 0.17 aA	1.33 ± 0.04 aA	98.92 ± 1.20 aA
Bb203	11.72 ± 0.32 cC	24.01 ± 0.19 eCD	33.75 ± 0.94 dD	0.33 ± 0.01 eD	80.67 ± 2.42 dD
Bb398	16.30 ± 0.23 bB	28.49 ± 0.49 cB	44.93 ± 0.33 bB	0.93 ± 0.01 dC	91.33 ± 3.14 bB
Bb646	18.75 ± 0.04 aA	33.50 ± 0.76 aA	50.53 ± 0.72 aA	1.17 ± 0.11 bB	97.67 ± 1.21 aA
Bb1448	16.65 ± 0.54 bB	29.49 ± 0.74 bB	45.94 ± 2.03 bB	1.04 ± 0.02 cC	92.33 ± 3.27 bB
Bb1898	18.98 ± 0.11 aA	34.02 ± 0.58 aA	51.31 ± 0.5 aA	1.26 ± 0.07 aAB	97.83 ± 1.17 aA

表中数据为平均值 ± 标准差；同列数据后不同字母表示差异显著，小写字母表示 0.05 水平上的差异显著水平，大写字母表示 0.01 水平上的差异显著水平。The data in the table are mean ± *SD*; these within a column followed by different letters are significantly different; small letters indicate significant difference at 0.05 level, while capital letters indicate extremely significant difference at 0.01 level.

2.1.3 不同菌株的抗旱能力：昆虫病原真菌在田间应用中的最大影响因子是环境的相对湿度。过低的相对湿度往往使真菌的孢子不能很好萌发，从而极大地影响了防治效果。因此，菌株的抗旱能力是菌株筛选的重要指标之一，抗旱能力越强说明菌株的孢子越能在野外相对湿度低的环境中正常萌发。由图 1 可见：在相对湿度 100% 时，各菌株的孢子萌发率都较高，24 h 萌发率在 79.68% ~ 99.00% 之间，Bb202 的孢子萌发率达到 99.00%。随着湿度的降低，菌株间萌发率的差异更加明显。在相对湿度 75% 时，各菌株的 24 h 萌发率在 57.49% ~ 87.51% 之间；而当相对湿度降至 50% 时，Bb202 的孢子萌发率仍可达到 67.53%；综合比较各菌株萌发率，Bb01 的抗旱能力最弱，而 Bb202 的抗旱能力最强，Bb398 和 Bb1448 抗旱能力处于中等水平。

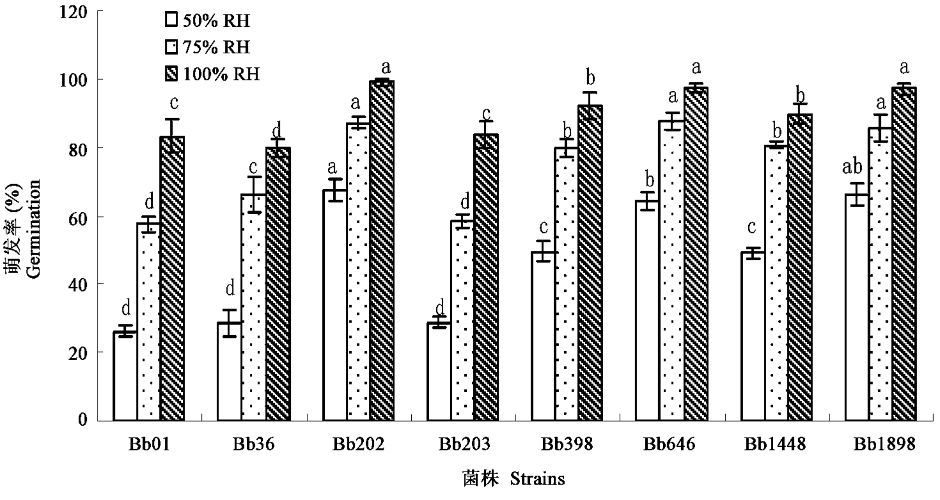

图 1 球孢白僵菌菌株在不同相对湿度条件下的 24 h 孢子萌发率

Fig. 1 Conidia germination of different *Beauveria bassiana* strains at different relative humidity (RH)

柱形图上端的字母表示各相对湿度条件下不同菌株的孢子萌发率差异程度，相同字母差异不显著，不同字母差异显著(邓肯式新复极差检测，$P < 0.05$)，下同。The letters on the top of columns show the significant difference of conidia germination among eight strains compared within one of the three different RHs (Duncan's multiple range test, $P < 0.05$). The same below.

2.1.4 不同菌株的胞外蛋白酶产生水平：球孢白僵菌在侵入虫体的过程中，要分泌多种酶类以降解昆虫体壁。胞外蛋白酶是最为重要的体壁降解酶，与菌株的毒力密切相关。在供试的 8 株球孢白僵菌菌株中，胞外蛋白酶产生水平均具有明显差异，Bb202、Bb646 和 Bb1898 这 3 个菌株胞外蛋白酶产生水平均较高，其中 Bb202 产酶水平最高达 2.36，而 Bb01 胞外蛋白酶产生水平最低仅有 1.08(图 2)。

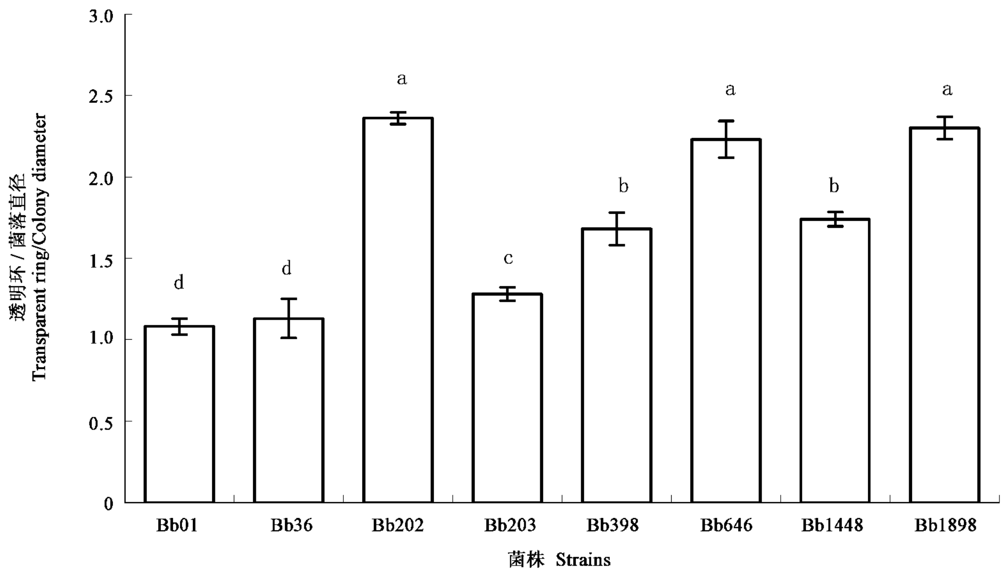

图 2　不同菌株的胞外蛋白酶产生水平

Fig. 2　Excreting level of extracellular protease of the tested strains

2.2　生物测定

2.2.1　感染症状：观察发现，感染白僵菌的栎旋木柄天牛幼虫初期行动呆滞，身体卷缩；3 天后随着病情的发展，虫体全身变成褐色。死后不久虫体开始变硬，随后 1 ~ 2 天虫体长出白色絮状菌丝；后菌丝布满全身，直至产生白色孢子。从接种到感染、病变、死亡及产孢的整个过程中，最短的为 4 天，最长的 14 天。

2.2.2　不同菌株对栎旋木柄天牛的致病力：在生物学指标测定的基础上，筛选 3 个性状良好的 Bb202、Bb646 和 Bb1898 菌株进行毒力测定。3 个菌株对栎旋木柄天牛表现出不同的致病性。在 1.0×10^7/mL 浓度下，菌株 Bb202 对栎旋木柄天牛的侵染率最高，第 10 天开始达到 93.3%，Bb646 的侵染率略高于 Bb1898；对照未受侵染(侵染率为 0)。死亡率、侵染率和 LT_{50} 可以反映出菌株对目标害虫的致病力。死亡率和侵染率越大，致病力越强；LT_{50} 越小，致病力越强。Bb202 与其他菌株相比，其造成的天牛死亡率最高、侵染率最高、LT_{50} 最小，因此其致病力最强(表 4)。

表 4　球孢白僵菌菌株对栎旋木柄天牛幼虫的致病性

Table 4　Pathogenicity of the tested *Beauveria bassiana* strains against *Aphrodisium sauteri* larvae

菌株 Strains	供试虫数 Number of larvae tested	幼虫死亡率 Larval mortality (%) 4 d	5 d	6 d	7 d	10 d	15 d	死亡率 Mortality (%)	校正死亡率 Corrected mortality (%)	感染率 Infection ratio (%)	LT_{50} (d)
Bb202	15	6.7	20.0	53.3	93.3	93.3	93.3	93.3	92.8	93.3	5.86
Bb646	15	0.0	0.0	6.7	6.7	33.3	60.0	60.0	57.1	53.3	13.89
Bb1898	15	0.0	0.0	0.0	6.7	46.7	66.7	66.7	64.3	46.7	14.30
对照 CK	15	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	6.7	6.7	–	0.0	0.00

3　讨论

利用昆虫病原真菌防治农林害虫，首要关键是选择对目标害虫毒力强的菌株。现在高毒力菌株筛选的方法一般均直接通过生物测定完成。但此方法最大的缺点在于工作量大且需要大量的供试昆虫用于生物测定，因此在对大规模菌株进行筛选或在供试昆虫数量不多的时候难以实施。因此，需要建立一种新的高毒力菌株筛选模式。

相关研究表明，菌落形态、产孢量等生物学指标均与菌株的毒力有关(唐晓庆等，1996a；Moor *et al.*，1997)。唐晓庆等(1996c)发现由于菌落局变而表现出的菌株毒力退化现象清楚地表明了菌落形态与毒力的相关性。Wang 等(2005)则从遗传的角度揭示了菌株菌落形态与毒力的相关性。本实验结果也表明，具有较强毒力的菌株其菌落均呈现薄粉状质地，与其他菌株有明显差异。对于产孢量与孢子

萌发速度等指标，蔡国贵(2003)认为产孢量大且萌发速度快的菌株对刚竹毒蛾 *Pantana phyllostachysae* 具有更强的毒力。本研究中，产孢能力强且孢子萌发速度快的菌株其毒力也较强，说明具有一定的相关性。

此外，已有很多研究表明，菌株产胞外蛋白酶水平和菌株的毒力大小有很大关系。胡景江和樊美珍(1996)研究表明菌株的胞外蛋白酶产生水平与其对马尾松毛虫的毒力之间存在明显的线性关系。St Leger 等(1988)认为菌株的蛋白酶活力与其毒力密切相关。本研究也表明，产胞外蛋白酶水平高的菌株对栎旋木柄天牛毒力强，这同样为菌株的筛选提供了参考。

同时菌株抗旱能力强弱是评判菌株野外侵染与生存能力的重要指标。唐晓庆等(1996b)研究发现，菌株野外应用效果与其抗旱力强弱有着重要关系。在 8 株供试的白僵菌菌株中，最终筛选的菌株 Bb202 有最强的抗旱能力。黄山风景区年平均相对湿度在 80%左右，该菌株在低湿条件下的萌发能力为林间的大规模应用奠定了基础。此外，下一步还需对菌株的抗紫外线能力进行研究，以便更全面地衡量菌株的抗逆性。

本研究中，首先根据菌株的产孢量、孢子萌发速度、胞外蛋白酶活性等生物学指标，筛选出了 3 株白僵菌菌株，并对其进行了生物测定，从而得到了孢子萌发迅速、产孢能力强、抗旱能力强且对栎旋木柄天牛具有高毒力的菌株 Bb202。该菌株对林业危险性害虫栎旋木柄天牛的侵染率达 90%以上；在孢子浓度为 1×10^7/mL 时的 LT_{50} 仅为 5.86 天，具有杀虫率高和杀虫速度较快的优点，说明该菌株在今后栎旋木柄天牛的林间防治中具有巨大的应用潜力。

参 考 文 献 (References)

Bidochka MJ, Khachatourians GG, 1987. Purification and properties of an extracellular protease produced by *Beauveria bassiana*. *Appl. Environ. Microbiol.*, 53: 1 679 – 1 684.

Cai GG, 2003. Screening of the superior strains of *Beauveria bassiana* of *Pantana phyllostachysae* and practical application. *Scientia Silvae Sinicae*, 39(2): 102 – 108. [蔡国贵, 2003. 刚竹毒蛾白僵菌优良菌株筛选及生产应用研究. 林业科学, 39(2): 102 – 108]

Fernando EV, 2006. Inoculation and colonization of coffee seedlings (*Coffea arabica* L.) with the fungal entomopathogen *Beauveria bassiana* (Ascomycota: Hypocreales). *Mycoscience*, 47: 284 – 289.

Ho YC, Harry KK, Jin H, Dong WL, Sang ML, 2002. Entomopathogenic nematodes (*Steinernema* spp. and *Heterorhabditis bacteriophora*) and a fungus *Beauveria brongniartii* for biological control of the white grubs, *Ectinohoplia rufipes* and *Exomala orientalis*, in Korean golf courses. *BioControl*, 47: 177 – 192.

Hu JJ, Fan MZ, 1996. Relation between extracellular protease of *Beauveria bassiana*. *Journal of Anhui Agricultural University*, 23(3): 273 – 278. [胡景江,樊美珍,1996. 球孢白僵菌胞外蛋白酶与其毒力的关系. 安徽农业大学学报, 23(3): 273 – 278]

Liu SR, Guo SJ, 1989. The study of *Aphrodisium sauteri*. *Journal of Shandong Forestry Science and Technology*, (3): 51 – 55. [刘世儒, 郭树嘉,1989. 台湾柄天牛的初步研究. 山东林业科技, (3): 51 – 55]

Moor D, Langewald J, Obognon F, 1997. Effects of rehydration on the conidial viability of *Metarhizium flavoviride* mycopesticide formulations. *Biocontrol Sci. Technol.*, 7(1): 87 – 94.

Pu ZL, Li ZZ, 1996. Insect Mycology. Anhui Science and Technology Publishing House, Hefei, Anhui. 432 – 435. [蒲蛰龙,李增智,1996. 昆虫真菌学. 安徽合肥:安徽科技出版社. 432 – 435]

Sergio BA, Marco AT, Luciana SR, Enrique C, 2005. *Beauveria bassiana* pathogenicity to the citrus rust mite *Phyllocoptruta oleivora*. *Experimental and Applied Acarology*, 37: 117 – 122.

Shimazu M, 2004. Effects of temperature on growth of *Beauveria bassiana* F-263, a strain highly virulent to the Japanese pine sawyer, *Monochamus alternatus*, especially its tolerance to high temperatures. *Appl. Entomol. Zool.*, 39(3): 469 – 475.

Shimazu M, Sato H, 2003. Effects of larval age on mortality of *Monochamus alternatus* Hope (Coleoptera: Cerambycidae) after application of non-woven fabric strips with *Beauveria bassiana*. *Appl. Entomol. Zool.*, 38(1): 1 – 5.

St Leger RJ, Durrands PK, Charnley AK, 1988. The role of extracellular chymoelastase in virulence of *Metarhizium anisopliase* for *Manduca sexta*. *J. Invertebr. Pathol.*, 52: 285 – 293.

Sun JM, Tang J, Ding GY, 1996. Study on biological features of different strains of *Beauveria bassiana*. *Journal of Anhui Agricultural University*, 23(3): 297 – 302. [孙继美, 汤坚, 丁贵银, 1996. 球孢白僵菌不同菌株生物学特性的研究. 安徽农业大学学报, 23(3): 297 – 302]

Tang XQ, Fan MZ, Li ZZ, 1996a. Study on saltation of *Beauveria bassiana*, an important entomogenous fungus, subcultured in different conditions. *Acta Mycologica Sinica*, 15(3): 188 – 196. [唐晓庆,樊美珍,李增智,1996a. 球孢白僵菌继代培养中菌落局变现象及环境影响因素的研究. 真菌学报, 15(3): 188 – 196]

Tang XQ, Huang B, Li ZZ, 1996b. Effect of subculturing on drought resistance of *Beauveria bassiana*. *Journal of Anhui Agricultural University*, 23(3): 289 – 292. [唐晓庆,黄勃,李增智,1996b. 继代培养对球孢白僵菌抗旱力的影响. 安徽农业大学学报, 23(3): 289 – 292]

Tang XQ, Tang YP, Li ZZ, 1996c. Strain degeneration of *Beauveria bassiana* and its effect on control of pine caterpillar, *Dendrolimus punctatus*. *Journal of Anhui Agricultural University*, 23(3): 246 – 253. [唐晓庆,唐燕平,李增智,1996c. 球孢白僵菌菌种退化及其对马尾松毛虫防治的影响. 安徽农业大学学报,23(3): 246 – 253]

Thomas D, Zeng ZL, Hu JF, Ann EH, 2004. Efficacy of fiber bands impregnated with *Beauveria brongniartii* cultures against the Asian

longhorned beetle, *Anoplophora glabripennis* (Coleoptera: Cerambycidae). *Biological Control*, 31: 320 – 328.

Wang CS, Huang B, Fan MZ, Li ZZ, 1999. Canonical analysis of different character group of *Beauveria bassiana*. *Mycosystema*, 18(4): 385 – 391. [王成树，黄勃，樊美珍，李增智，1999. 球孢白僵菌数量性状的典型相关分析. 菌物系统，18(4): 385 – 391]

Wang CS, Tariq MB, Raymond JSL, 2005. Colony sectorization of *Metarhizium anisopliae* is a sign of ageing. *Microbiology*, 151: 3 223 – 3 236.

Yu YX, 2002. Three species of forest pests in high-altitude belt's scenic spot of Sanqing Mountain. *Jiangxi Forestry Science and Technology*, (5): 25 – 26. [俞云祥，2002. 三清山景区高海拔地带的 3 种森林害虫记述. 江西林业科技，(5): 25 – 26]

Zhang LQ, Liu J, Wu H, 2000. The screening virulent strain of *Beauveria bassiana* to *Monochamus alternatus*. *Journal of Nanjing Forestry University*, 24(2): 33 – 37. [张立钦，刘军，吴鸿，2000. 松褐天牛优良白僵菌菌株筛选. 南京林业大学学报，24(2): 33 – 37]

（责任编辑：黄玲巧）